

QIASymphony® RGQ-applikationsblad

QIASymphony RGQ-applikation artus® BK-virus QS-RGQ-kit (provtyp: urin, 800 µl)



Kontrollera om det finns några nya elektroniska märkningsrevisioner på www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgqcrkit.aspx innan testet utförs. Nuvarande revisionsstatus anges av utgivningsdatumet (format: månad/år).

Allmän information

Kit	artus BK Virus QS-RGQ-kit, version 1, REF 4514363
Validerat provmaterial	Urin
Inledande rening	QIASymphony DSP virus/patogen Midi Kit (kat.nr 937055)
Provvoly (inklusive överskottsvoly)	1 000 µl
Analysparameteruppsättning	artus_BKV_urine800_V4
Förvald analyskontrolluppsättning	Complex800_V6_DSP_artus_BKV
Elueringsvoly	60 µl
Nödvändig programversion	Version 4.0 eller senare
Masterblandningsvoly	10 µl
Mallvoly	15 µl
Antal reaktioner	6-24*
Körtid på AS-modul	För 6 reaktioner: cirka 8 minuter För 72 reaktioner: cirka 35 minuter

* För analysinställningar för BK-virus, kan maximalt 216 (9 x 24) analyser ställas in i en körning på QIASymphony AS.

Maj 2012



Sample & Assay Technologies

Material som behövs men inte medföljer

Reningskit	■	QIASymphony DSP virus/patogen Midi Kit (kat.nr 937055)
Adaptrar för QIASymphony SP	■	Elution Microtube Rack QS (elueringsmikrorörställ) (Cooling Adapter [kyladapter], EMT, v2, Qsym, kat.nr 9020730)
	■	Tube Insert 3B (rörinsats 3B) (Insert, 2.0ml v2, samplecarr. [Insats, 2,0 ml v2, provbärare] (24), Qsym, kat.nr 9242083)
Förbrukningsprodukter för QIASymphony SP	■	Sample Prep Cartridges, 8-well (Provprepareringskassetter, 8-brunnars) (kat.nr 997002)
	■	8-Rod Covers (8-stavsskydd) (kat. nr 997004)
	■	Filter-Tips, 1500 μ l (filterspetsar 1 500 μ l) (kat.nr 997024)
	■	Filter-Tips, 200 μ l (filterspetsar 200 μ l) (kat.nr 990332)
	■	Elution Microtubes CL (eluerings-mikrorör CL) (kat.nr 19588)
	■	Tip disposal bags (avfallspåsar för spetsar) (kat.nr 9013395)
	■	Micro tubes 2.0 ml Type H (mikrorör 2,0 ml Typ H) eller Micro tubes 2.0 ml Type I (mikrorör 2,0 ml Typ I) (Sarstedt, kat.nr 72.693 och 72.694, www.sarstedt.com) för användning med prover och interna kontroller
Adaptrar och reagenshållare för QIASymphony AS	■	Reagent Holder 1 QS (reagenshållare 1 QS) (Cooling Adapter [avkylningsadapter], Reagent Holder 1 [reagenshållare 1], Qsym, kat.nr 9018090)
	■	Reagent Holder 2 QS (reagenshållare 2 QS) (Cooling Adapter [avkylningsadapter], Reagent Holder 2 [reagenshållare 2], Qsym, kat.nr 9018089)
	■	RG Strip Tubes 72 QS (RG-striprör 72 QS) (Cooling Adapter [avkylningsadapter], RG Strip Tubes 72 [RG-striprör 72], Qsym, kat.nr 9018092)

Förbrukningsmaterial för QIASymphony AS	<ul style="list-style-type: none"> ■ Strip Tubes and Caps (striprör med lock), 0,1 ml (kat.nr 981103) ■ Tubes, conical (rör, koniska), 2 ml, Qsym AS (kat.nr 997102)* eller Micro tubes 2.0 mL Type I (mikrorör 2,0 ml, typ I) (Sarstedt, kat.nr 72.694.005) ■ Tube, conical (rör, koniskt), 5 ml, Qsym AS (kat.nr 997104)* eller Tubes with flat base from PP (rör med platt bas från PP) (Sarstedt, kat.nr 60.558.001) ■ Reagent Bottles (reagensflaskor), 30 ml, Qsym AS (kat.nr 997108) ■ Elution Microtubes CL (eluerings-mikrorör CL) (kat.nr 19588) ■ Filter-Tips, 1500 μl (filterspetsar 1 500 μl) (kat.nr 997024) ■ Filter-Tips, 200 μl (filterspetsar 200 μl) (kat.nr 990332) ■ Filter-Tips, 50 μl (filterspetsar 50 μl) (kat.nr 997120) ■ Tip disposal bags (avfallspåsar för spetsar) (kat.nr 9013395)
För provberedning (urin)	<ul style="list-style-type: none"> ■ Buffer ATL, GPR (ATL-buffert, GPR) (kat.nr 939016)

* Kontrollera om produkten är tillgänglig.

Förvaring och hantering av prover

Provtagning	Human urin
Provtransport	Splitterfri transport Sändning inom 6 timmar Posta sändningen enligt rättsliga instruktioner för transport av patogenmaterial*
Provberedning	Undvik skumbildning i eller på proven. Prover måste uppnå rumstemperatur (15–25 °C) innan du startar körningen.

* IATA (International Air Transport Association). Dangerous Goods Regulations (Föreskrifter om farligt gods).

Utförande

Beredning av bärar-RNA och tillsats av den interna kontrollen till proverna

Användningen av QIASymphony DSP virus/patogen midi-kit i kombination med *artus* BK virus QS-RGQ-kitet kräver att den interna kontrollen (BK-virus RG IC) förs in i reningsproceduren för att övervaka effektiviteten av provberedning och nedströmsanalys.

Interna kontroller måste tillsättas med bärar-RNA (CARRIER)-buffert AVE (AVE)-blandning, och den totala volymen av den interna kontrollbärar-RNA (CARRIER)-buffert AVE (AVE)-blandningen förblir 120 μ l.

I tabellen anges tillsatsen av den interna kontrollen till isolatet i förhållandet 0,1 μ l per 1 μ l elueringsvolym. Vi rekommenderar att du bereder färska blandningar för varje körning precis före användning.

Komponent	Volym (μ l) (Sarstedt®-rör)*	Volym (μ l) (BD™-rör)†
Stamlösning av bärar-RNA (CARRIER)	3	3
Intern kontroll‡	9	9
AVE-buffert	108	108
Slutlig volym per prov (exklusive dödvolum)	120	120
Total volym för n prover	(n x 120) + 360§	(n x 120) + 600¶

* Mikrorör 2,0 ml typ H och mikrorör 2,0 ml typ I, Sarstedt kat.nr. 72.693 och 72.694.

† Rör 14 ml, 17 x 100 mm av polystyren med rund botten (Becton Dickinson, kat.nr 352051).

‡ Beräkningen av andelen intern kontroll bygger på de inledande elueringsvolymerna (90 μ l). Ytterligare tomvolym beror på vilken typ av provrör som används.

§ Intern kontrollblandning motsvarande ytterligare 3 prover (dvs. 360 μ l) krävs. Fyll inte provröret med mer än totalt 1,92 ml (dvs. högst 13 prover). Dessa volymer är specifika för mikrorör 2,0 ml typ H och mikrorör 2,0 ml typ I, Sarstedt kat.nr 72.693 och 72.694).

¶ Intern kontrollblandning motsvarande ytterligare 5 prover (dvs. 600 μ l) krävs. Fyll inte provröret med mer än totalt 13,92 ml (dvs. högst 111 prover). Dessa volymer är specifika för provrör av polystyren, 14 ml, 17 x 100 mm, med rund botten, Becton Dickinson, kat.nr 352051).

QIASymphony SP-uppsättning

Lådan "Waste" (Avfall)

Hållare för enhetslådor 1–4	Tomma enhetslådor
Avfallspåshållare	Avfallspåse
Hållare för flaska för flytande avfall	Töm och installera flaska för flytande avfall

Lådan "Eluate" (Eluat)

Elueringsställ	Använd uttag 1, kylpositionen
Elueringsvolym*	Förvald elueringsvolym: 60 µl Initial elueringsvolym: 90 µl

* Elueringsvolymen är förvald för protokollet. Detta är den minsta eluatvolym som är tillgänglig i det slutliga elueringsröret. Den första volymen av elueringslösning krävs för att förvissa sig om att den verkliga volymen av eluerad substans är densamma som den förvalda volymen.

Lådan "Reagents and Consumables" (Reagens och förbrukningsmaterial)

Position A1 och/eller A2	Ladda 1 reagenspatron (RC) för maximalt 48 prover eller 2 nya reagenspatroner (RC) med maximalt 96 prover.
Position B1	ATL-buffert (ATL)
Spetsställhållare position 1–17	Ladda tillräckligt många ställ med engångsfilterspetsar, 200 µl och 1 500 µl (se "Nödvändiga plastartiklar för 1–4 provbatcher", sida 7)
Enhetslådhallare position 1–4	Ladda enhetslådor som innehåller provprepareringskassetter och 8-stavsskydd (se "Nödvändiga plastartiklar för 1–4 provbatcher", sida 7)

Lådan "Sample"

Provtyp	Urin
Provvoly (inklusive överskottsvoly)	1 000 μ l
Provrör	Micro tubes 2.0 ml Type H (mikrorör 2,0 ml Typ H) eller Micro tubes 2.0 ml Type I (mikrorör 2,0 ml Typ I) (Sarstedt, kat.nr 72.693 och 72.694)
Insats	Tube Insert 3B (rörinsats 3B) (kat.nr 9242083)

Nödvändiga plastartiklar för 1–4 provbatcher

	En batch, 24 prover*	Två batcher, 48 prover*	Tre batcher, 72 prover*	Fyra batcher, 96 prover*
Engångsfilterspetsar, 200 μl†	34	60	86	112
Engångsfilterspetsar, 1 500 μl†	123	205	295	385
Provprepareringskassetter‡	18	36	54	72
8-stavsskydd¶	3	6	9	12

* Om du använder fler än ett internt kontrollrör per batch och utför fler än en inventarieskanning krävs ytterligare kasserbara filterspetsar.

† Det finns 32 filterspetsar/spetsställ.

‡ Antalet filterspetsar som krävs inbegriper filterspetsar för 1 inventarieskanning per reagenskasset.

§ Det finns 28 provprepareringskassetter/enhetslåda.

¶ Det finns tolv 8-stavsskydd/enhetslåda.

QIASymphony AS-inställning

Förbrukningsprodukter

Under inställningen anges lämpliga positioner för varje förbrukningsprodukt på QIASymphony AS-modulen på instrumentets pekskärm.

Förbrukningsprodukter	Namn på pekskärm	För användning med adapter/reagenshållare
Strip-rör och lock, 0,1 ml (250)	QIA#981103 *StripTubes 0.1	RG strip-rör 72 QS
Rör, koniska, 2 ml, Qsym AS (500)*†	QIA#997102 *T2.0 ScrewSkirt†	Reagenshållare 1 QS Reagenshållare 2 QS
Rör, koniska, 5 ml, Qsym AS (500)*†	QIA#997104 *T5.0 ScrewSkirt†	Reagenshållare 1 QS Reagenshållare 2 QS
Reagensflaskor, 30 ml, Qsym AS (50)*	QIA#997108 *Bottle 30ml†	Reagenshållare 2 QS
Elution Microtubes CL (24 x 96)	QIA#19588 * EMTR	Elueringsmikrorörställ QS

* För master mix-komponenter, systempreparerad master mix, analysstandarder och analyskontroller.

† Alternativt går det att använda Sarstedt-rören som beskrivs i "Material som behövs men inte medföljer", sida 2.

‡ Suffixet "(m)" på pekskärmen betyder att beräknad vätskenivå för respektive provrör har optimerats för reagens som bildar en konkav menisk.

Adaptrar och reagenshållare

Ställ/reagenshållare	Namn	Antal som krävs [§]
Provställ	Elueringsmikrorörställ QS	1
Reagenshållare	Reagenshållare 1 QS	1
Analysställ	RG strip-rör 72 QS	1

[§] Beräknad för en analyskörning med 72 reaktioner.

Filterspetsar

Ladda spetsställ med start med spetsuttag 1, 2 och 3 i lådan "Eluate and Reagents" (Eluat och reagenser) och ladda därefter spetsställ i spetsuttag 7, 8 och 9 i lådan "Assays" (Analys).

Förbrukningsprodukt	Namn på pekskärm	Minsta antal för 24 reaktioner	Minsta antal för 72 reaktioner
Filterspetsar, 1 500 μ l (1024)	1500 μ l	3	4
Filterspetsar, 200 μ l (1024)	200 μ l	5	5
Filterspetsar, 50 μ l (1024)	50 μ l	25	73
Spetsavfallspåsar	–	1	1

RT-PCR på Rotor-Gene Q

Se det programspecifika protokollbladet "Settings to run *artus* QS-RGQ Kits" (inställningar för körning av *artus* QS-RGQ-kit) på www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgqcrkit.aspx.

Specifika inställningar för *artus* BK-virus QS-RGQ-kitet

Rotor-Gene AssayManager ställer automatiskt in parametrarna för *artus* BK virus QS-RGQ-kitet.

Med Rotor-Gene-program 2.1 visas de specifika inställningarna nedan.

Reaktionsvolym (μl)	50
Håll	Hålltemperatur: 95 grader Hålltid: 10 min.
Cykling	45 gånger 95 grader för 15 sek. 65 grader för 20 sek. 72 grader för 20 sek. Kontrollera att du har aktiverat den slutliga funktionen för 10 cykler i hybridiseringssteget.
Inställning av automatisk optimering av förstärkning	65 grader (Prover: Grön; IC: Orange)

Tolkning av resultat

I detta avsnitt beskrivs tolkningen av resultat på Rotor-Gene Q. Granska även provstatusinformation från QIASymphony SP/AS-resultatfiler för analys av det kompletta arbetsflödet prov-till-resultat. Använd endast prover med en giltig status.

Rotor-Gene AssayManager tolkar automatiskt PCR-resultaten och ger en slutsats och ett kvantitativt resultat.

I nedanstående avsnitt beskrivs tolkning av resultat med användning av Rotor-Gene-program 2.1 eller senare.

Signaldetektion och slutsatser – urin 800 µl

Signal i kanalen Cycling Green	Signal i kanalen Cycling Orange	Kvantitativt resultat (kopior/ml)	Tolkning
Ja	Ja	<78,5	Giltigt resultat: BK-virus-DNA detekterat, <100 kopior/ml Kvantifiering är ej möjlig eftersom det kvantitativa resultatet är under detektionsgränsen. Det positiva resultatets reproducerbarhet är inte säkerställt.
Ja	Ja	≥78,5 och <100	Giltigt resultat: BK-virus-DNA detekterat, <100 kopior/ml Kvantifiering är ej möjlig eftersom det kvantitativa resultatet är under analysens linjära område.
Ja	Ja	≥100 och ≤1 x 10 ⁹	Giltigt resultat: BK-virus-DNA detekterat vid den beräknade koncentrationen Kvantitativt resultat är inom analysens linjära område.
Ja	Ja	>1 x 10 ⁹	Giltigt resultat: BK-virus-DNA detekterat, >1 x 10 ⁹ kopior/ml Kvantifiering är ej möjlig eftersom det kvantitativa resultatet är över analysens linjära område.*
Nej	Ja	–	Giltigt resultat: Inget BK-virus-DNA kan detekteras.†
Nej	Nej	–	Ogiltigt resultat: Det går inte att komma fram till något resultat.‡

* Om kvantifiering önskas, ska provet spädas med BK-virusfritt urin och ombearbetas. Multiplicera det kvantitativa resultatet från det ombearbetade provet med spädningfaktorn.

† Om C_T-värdet för den interna kontrollen av ett negativt prov är mer än 3 cykler högre än C_T-värdet för den interna kontrollen av kontrollen utan mall i körningen (C_{TIC Sample} – C_{TIC NTC} >3) så ska provet betraktas som ogiltigt. Det går inte att komma fram till något resultat.

‡ Information om felkällor och deras lösning återfinns i "Troubleshooting guide" (felsökningsguiden) för handbok till artus BK-virus QS-RGQ-kit (*artus BK Virus QS-RGQ Kit Handbook*).

Tröskelinställning för PCR-analysen

De optimala tröskelinställningarna för en viss kombination av Rotor-Gene Q-instrument och *artus* QS-RGQ-kitet ska fastställas empiriskt genom testning av varje enskild kombination, då detta är ett relativt värde som beror på det övergripande diagnostiska arbetsflödet. Tröskeln kan ställas in på ett preliminärt värde av 0,04 för analysen av den första PCR-körningen, men detta värde ska finjusteras genom komparativ analys av följande körningar i arbetsflödet. Tröskeln ska ställas in manuellt strax över bakgrundssignalen från de negativa kontrollerna och negativa proverna. Det genomsnittliga tröskelvärde som beräknas genom dessa experiment kommer sannolikt att fungera för de flesta av de kommande körningarna, men användaren måste inte desto mindre granska det genererade tröskelvärdet regelbundet. Tröskelvärdet ligger oftast inom området 0,03–0,05 och ska rundas av till högst tre decimaler.

Kvantifiering

Kvantifieringsstandarderna (BK-virus RG QS 1–4) i *artus* BK Virus QS-RGQ-kitet behandlas som tidigare renade prover och samma volym används (15 µl). Om du vill framställa en standardkurva på Rotor-Gene Q-instrument, måste du använda alla 4 kvantifieringsstandarder och definiera dessa i dialogrutan "Edit Samples" (Redigera prover) på Rotor-Gene Q-instrumentet som standarder med de specificerade koncentrationerna (se instrumentanvändarhandboken).

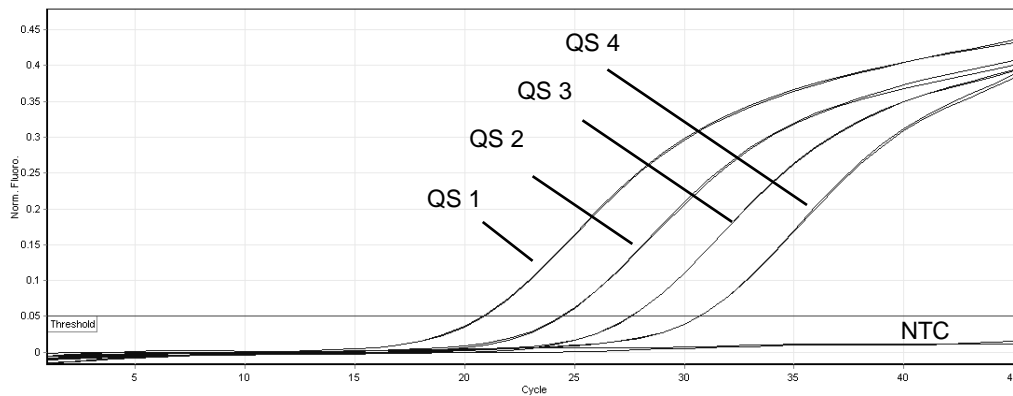
Obs: Kvantifieringsstandarderna definieras som kopior/µl. Följande ekvation måste användas för att omvandla de fastställda värdena med hjälp av standardkurvan till kopior/ml av provmaterial.

$$\text{Resultat (kopior/ml)} = \frac{\text{Resultat (kopior/}\mu\text{l)} \times \text{inledande elueringsvolym (90 }\mu\text{l)}^*}{\text{Provolym (ml)}}$$

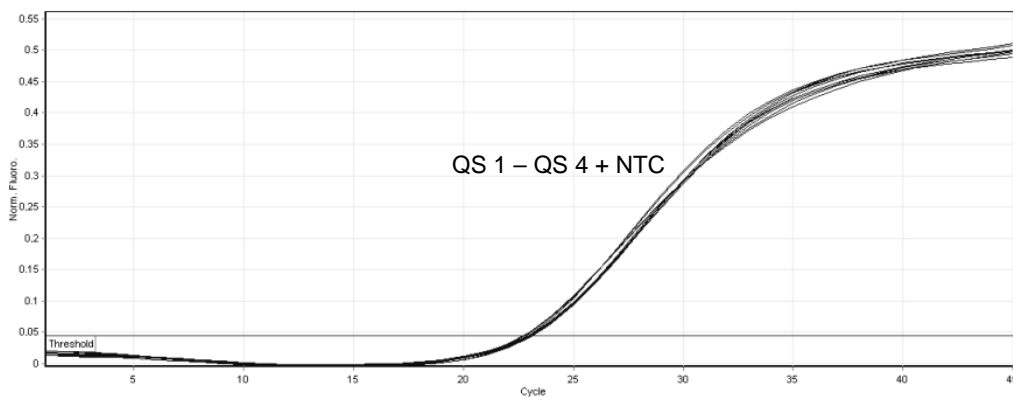
Principiellt ska den inledande provvolymen ifyllas i ekvationen ovan. Tag hänsyn till denna när provvolymen har förändrats före extraheringen av nukleinsyra (till exempel reduktion av volymen genom centrifugering eller ökning av volymen genom att tillsätta den volym som krävs för isoleringen).

* Beräkningen grundas på de inledande elueringsvolymerna (90 µl).

Exempel på positiva och negativa PCR-reaktioner



Detektion av kvantifieringsstandarderna (BK-virus RG QS 1–4) i fluorescenskanalen Cycling Green. NTC: Kontroll utan mall (negativ kontroll).



Detektion av den interna kontrollen (IC) i fluorescenskanalen Cycling Orange med samtidig amplifiering av kvantifieringsstandarderna (BK-virus RG QS 1–4). NTC: Kontroll utan mall (negativ kontroll).

Uppdaterad licensinformation och produktspecifika friskrivningsklausuler finns i respektive QIAGEN-kithandbok eller -bruksanvisning. Handböcker och bruksanvisningar till QIAGEN-kit finns på www.qiagen.com eller kan beställas från QIAGENS tekniska support eller din lokala återförsäljare.

Varumärken: QIAGEN®, QIASymphony®, artus®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group); BD™ (Becton, Dickinson and Company); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.).

© 2012 QIAGEN, med ensamrätt.

www.qiagen.com

Canada = 800-572-9613

Ireland = 1800 555 049

Norway = 800-18859

China = 021-3865-3865

Italy = 800-787980

Singapore = 65-67775366

Denmark = 80-885945

Japan = 03-6890-7300

Spain = 91-630-7050

Australia = 1-800-243-800

Finland = 0800-914416

Korea (South) = 1544 7145

Sweden = 020-790282

Austria = 0800/281010

France = 01-60-920-930

Luxembourg = 8002 2076

Switzerland = 055-254-22-11

Belgium = 0800-79612

Germany = 02103-29-12000

Mexico = 01-800-7742-639

UK = 01293-422-911

Brazil = 0800-557779

Hong Kong = 800 933 965

The Netherlands = 0800 0229592

USA = 800-426-8157



Sample & Assay Technologies